

Febbraio 2017

# Kit QIAasymphony<sup>®</sup> DSP Circulating DNA

Caratteristiche delle prestazioni

IVD

CE

MAT

937556

---

# Indice

Caratteristiche delle prestazioni .....	4
Prestazioni di base .....	4
Precisione del processo .....	6
Prestazioni equivalenti di protocolli con 2 ml e 4 ml .....	6
Distribuzione dimensionale .....	7
Stabilità dell'eluato .....	9

---

Il QIAasymphony DSP Circulating DNA è un test in vitro pronto all'uso per la purificazione qualitativa di DNA libero circolante (ccfDNA) da plasma e urina umani.

Il kit QIAasymphony DSP Circulating DNA è studiato per essere utilizzato esclusivamente in combinazione con lo strumento QIAasymphony SP.

Il kit QIAasymphony DSP Circulating DNA fornisce reagenti per procedure completamente automatizzate e simultanee di purificazione di ccfDNA umano da un'ampia gamma di tipologie di plasma umano (trattato con anticoagulante EDTA o citrato, nonché plasma da provette per prelievo ematico per stabilizzazione del ccfDNA) e urina umana (stabilizzata e non stabilizzata). Le caratteristiche delle prestazioni non sono state accertate per ogni provetta di prelievo ematico e devono essere convalidate dall'utente.

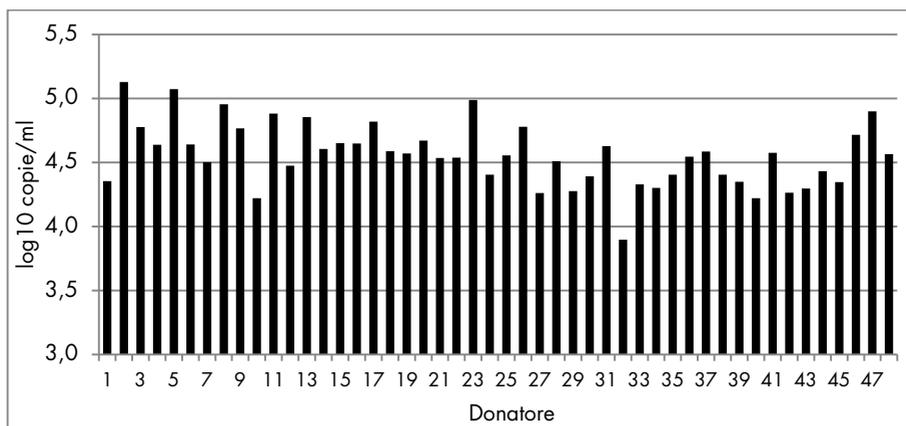
Il ccfDNA purificato è compatibile con un'ampia gamma di applicazioni a valle. Il QIAasymphony SP esegue tutte le fasi della procedura di purificazione. In una singola sessione possono essere processati fino a 96 campioni, in lotti di 24 campioni. I campioni di urina possono richiedere un pretrattamento manuale.

# Caratteristiche delle prestazioni

## Prestazioni di base

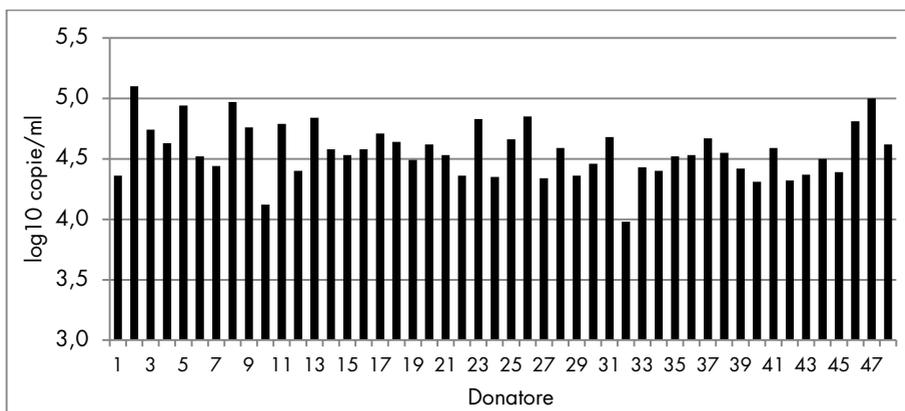
Le prestazioni di base del kit QIASymphony DSP Circulating DNA sono state valutate utilizzando 48 singoli donatori di ccfDNA estratto da 4 ml di plasma stabilizzato, nonché da 4 ml di plasma trattato con EDTA e 4 ml di urina stabilizzata. La resa del ccfDNA è stata determinata tramite test PCR in tempo reale interno per la sequenza codificante l'RNA ribosomiale 18S.

La differenza delle rese ( $\log_{10}$  copie/ml) riportate in Figura 1 (4 ml di plasma stabilizzato), Figura 2 (4 ml di plasma trattato con EDTA) e Figura 3 (4 ml di urina stabilizzata) riflette le forti concentrazioni donatore-dipendenti del ccfDNA tipicamente osservate nello stesso volume del rispettivo campione. La resa del ccfDNA tra plasma stabilizzato e plasma trattato con EDTA mostra un'alta correlazione per i 48 singoli donatori utilizzando il plasma da due diversi tipi di BCT (provette per prelievo ematico) (Figura 1 e Figura 2).

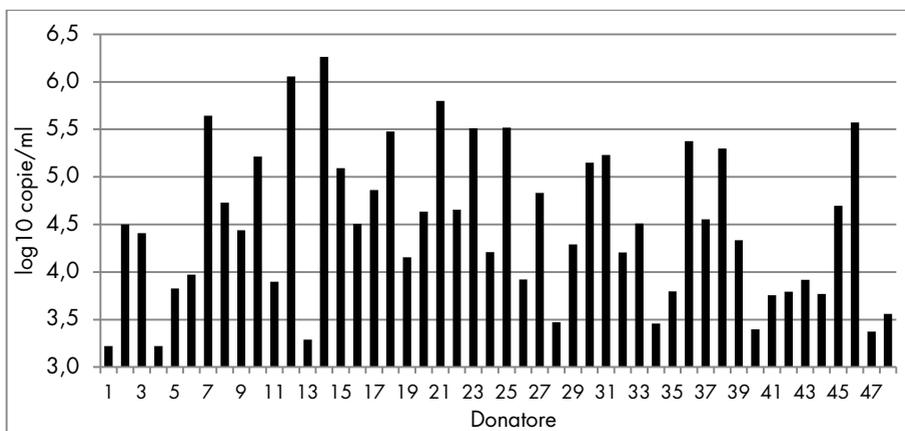


**Figura 1. Resa del ccfDNA da plasma di 48 singoli donatori: provette per prelievo ematico per stabilizzazione del ccfDNA.** La donazione di sangue di 48 singoli donatori è stata eseguita in provette per prelievo ematico per stabilizzazione del ccfDNA. Il ccfDNA è stato estratto da 4 ml di plasma

utilizzando il kit QIAasymphony DSP Circulating DNA e la resa del ccfDNA è stata quantificata tramite test PCR in tempo reale interno per la sequenza codificante l'RNA 18S. I risultati sono stati calcolati come copie target per ml di plasma immesso.



**Figura 2. Resa del ccfDNA da plasma di 48 singoli donatori: provette per il prelievo di sangue trattato con EDTA.** La donazione di sangue di 48 singoli donatori è stata eseguita in provette per il prelievo di sangue trattato con EDTA. Il ccfDNA è stato estratto da 4 ml di plasma utilizzando il kit QIAasymphony DSP Circulating DNA e la resa del ccfDNA è stata quantificata tramite test PCR in tempo reale interno per la sequenza codificante l'RNA 18S. I risultati sono stati calcolati come copie target per ml di plasma immesso.



**Figura 3. Resa del ccfDNA da urina stabilizzata di 48 singoli donatori.** L'urina di 48 singoli donatori è stata stabilizzata subito dopo la raccolta. Il ccfDNA è stato estratto da 4 ml di urina utilizzando il kit

QIAasymphony DSP Circulating DNA e la resa del ccfDNA è stata quantificata tramite test PCR in tempo reale interno per la sequenza codificante l'RNA 18S. I risultati sono stati calcolati come copie target per ml di urina immesso.

## Precisione del processo

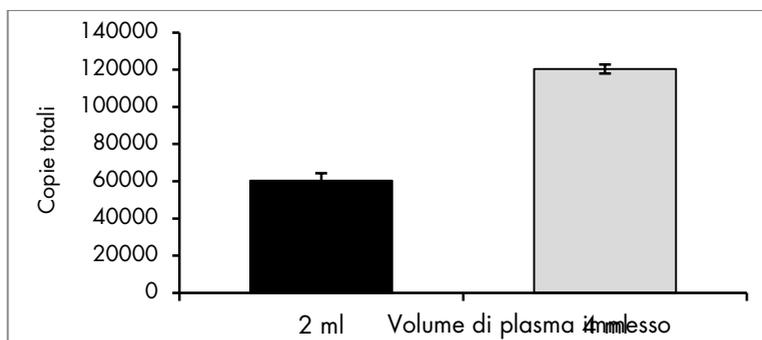
Sono stati determinati i coefficienti di variazione (CV) per l'estrazione di ccfDNA umano da plasma trattato con EDTA. Per l'analisi di precisione, il ccfDNA è stato quantificato tramite test PCR in tempo reale interno per la sequenza codificante l'RNA ribosomiale 18S. In totale, con il QIAasymphony sono stati eseguiti 10 processi, ciascuno in 4 lotti (8 replicati per lotto). I dati di precisione sono riportati nella Tabella 1.

**Tabella 1. Analisi delle stime di precisione**

<b>Precisione</b>	<b>CV (%)</b>
Entro il lotto	11,67
Ripetibilità	13,14
Precisione intermedia	13,14
Precisione totale	14,12

## Prestazioni equivalenti di protocolli con 2 ml e 4 ml

Sono state valutate le prestazioni equivalenti di protocolli riguardanti un volume di campione immesso pari a 2 ml e 4 ml per il kit QIAasymphony DSP Circulating DNA utilizzando ccfDNA endogeno estratto da pool di plasma umano trattato con EDTA. In totale, con il QIAasymphony sono stati eseguiti 8 processi indipendenti, ciascuno in 4 lotti con 8 replicati per lotto. L'intervallo lineare della procedura del kit QIAasymphony DSP Circulating DNA è stato stabilito per la sequenza codificante l'RNA 18S con un test PCR in tempo reale interno (Figura 4). Il rapporto della differenza tra i protocolli per 2 ml e 4 ml è illustrato nella Tabella 2. (Il protocollo di riferimento riguarda un volume di campione immesso di 4 ml).



**Figura 4. Prestazioni equivalenti utilizzando il protocollo per volume di campione immesso di 2 ml e 4 ml.** Il range lineare del protocollo ccfDNA è stato determinato utilizzando protocolli per 2 ml e 4 ml. La resa del ccfDNA è stata quantificata utilizzando un test PCR in tempo reale interno per la sequenza codificante l'RNA 18S. I risultati sono stati calcolati come copie target per protocollo.

**Tabella 2. Differenza tra protocolli per 2 ml e per 4 ml (N = 256)**

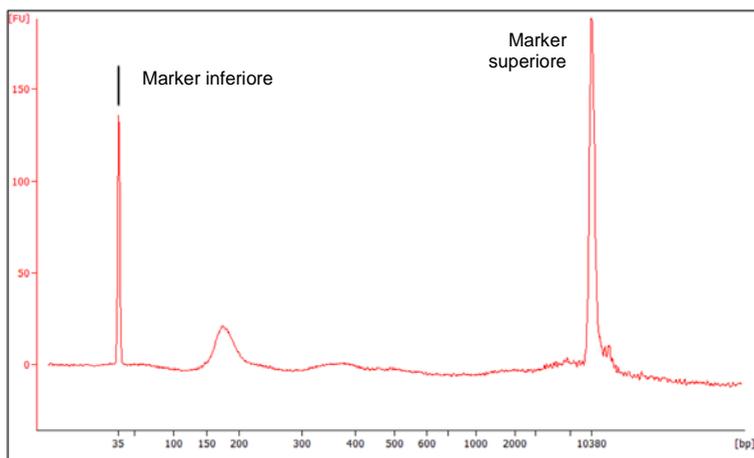
Parametro	Valore
Rapporto stimato della media geometrica in copie/ml calcolate	1,01
Limite inferiore di confidenza al 95%	0,92
Limite superiore di confidenza al 95%	1,11

Le prestazioni dei protocolli per un volume di campione immesso di 2 ml e 4 ml sono equivalenti, misurate in copie/ml calcolate.

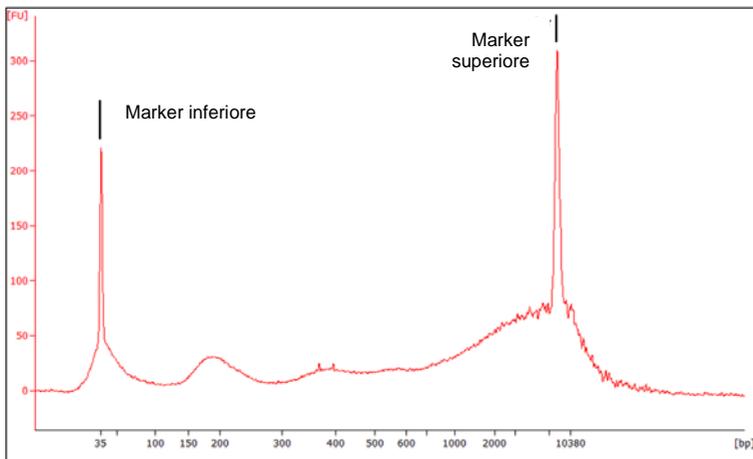
## Distribuzione dimensionale

Per valutare la distribuzione dimensionale dell'uscita campione, è stato estratto ccfDNA da un volume di campione immesso di 4 ml utilizzando il kit QIASymphony DSP Circulating DNA, poi eluito in 75 µl; 1 µl di eluato è stato quindi sottoposto ad analisi delle dimensioni con il Bioanalyzer Agilent 2100 utilizzando un chip Agilent High Sensitivity DNA. Sono stati eseguiti in totale 5 replicati indipendenti. Un profilo rappresentativo del DNA è illustrato per il plasma in Figura 5 e per l'urina stabilizzata in Figura 6.

L'elettroferogramma per il plasma in Figura 5 mostra il picco osservato frequentemente a ~160 bp, compreso tra 145 bp e 196 bp, che si trova nel range della lunghezza del DNA presente nel nucleosoma e legato agli istoni. L'elettroferogramma per l'urina in Figura 6 mostra che il picco predominante a ~160 bp è più ampio, ossia compreso tra ~145 bp e 250 bp. Inoltre, per l'urina è presente un secondo picco compreso tra ~20 bp e 100 bp (a livello del picco del marker inferiore), indicando una frazione di ccfDNA con grado di frammentazione più elevato. La Figura 6 mostra anche un numero elevato di frammenti di DNA a partire da ~2 kb. Un'elevata numerosità di tali frammenti di DNA genomico si trova spesso in campioni di urina, molto probabilmente a causa del rilascio di DNA genomico da cellule presenti nell'urina.



**Figura 5. Distribuzione dimensionale di ccfDNA da plasma (profilo Bioanalyzer).** Il ccfDNA è stato estratto da 4 ml di plasma trattato con EDTA utilizzando il kit QIAasymphony DSP Circulating DNA; 1 µl di eluato è stato sottoposto ad analisi con chip Agilent High Sensitivity DNA. Asse X: dimensioni coppie di basi (bp); asse Y: unità di fluorescenza (FU).

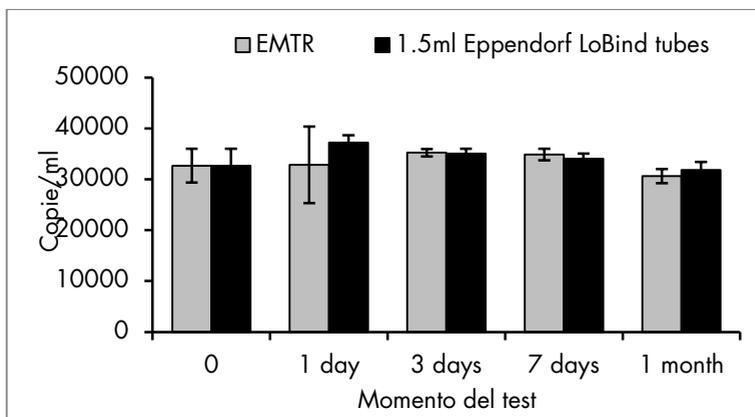


**Figura 6. Distribuzione dimensionale di cfDNA da urina (profilo Bioanalyzer).** Il cfDNA è stato estratto da 4 ml di urina stabilizzata utilizzando il kit QIAasympyony DSP Circulating DNA; 1  $\mu$ l di eluato è stato sottoposto ad analisi con chip Agilent High Sensitivity DNA. Asse X: dimensioni coppie di basi (bp); asse Y: unità di fluorescenza (FU).

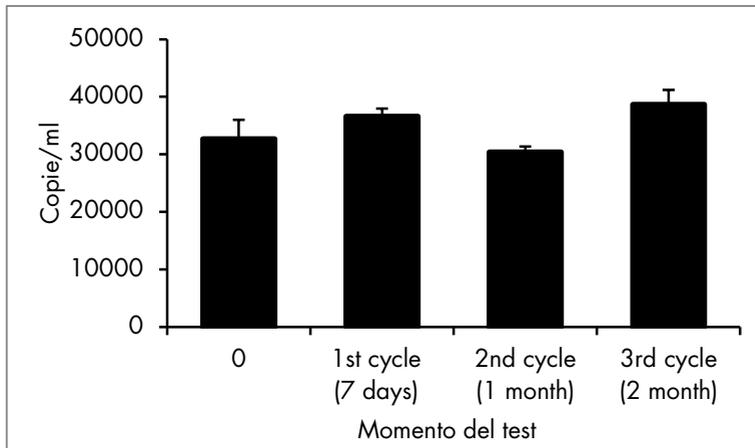
## Stabilità dell'eluato

La stabilità dell'eluato per il kit QIAasympyony DSP Circulating DNA è stata valutata utilizzando cfDNA estratto da un pool di plasma umano trattato con EDTA. Gli eluati sono stati conservati in 2 differenti formati di rack per eluizione: QIAGEN EMTR (Elution Microtubes CL 96; cat. n. 19588) e provette Safe-Lock con tappo a pressione Eppendorf® LoBind da 1,5 ml. Gli eluati sono stati analizzati in replicati di 8. La stabilità del DNA in eluati è stata determinata tramite test PCR in tempo reale interno per la sequenza codificante l'RNA ribosomiale 18S.

La stabilità degli eluati a 2–8 °C non è stata influenzata dalla durata del periodo di conservazione fino a un mese, né dalla forma di conservazione (Figura 7). La stabilità del DNA in provette LoBind non è stata influenzata dalla conservazione alla temperatura compresa tra –15 e –30°C, inclusi 3 cicli di congelamento-scongelo dopo 7 giorni, un mese e due mesi (Figura 8).



**Figura 7. Stabilità di ccfDNA in eluati conservati a 2–8°C in 2 formati di provette.** Il ccfDNA è stato estratto da plasma trattato con EDTA utilizzando il kit QIASymphony DSP Circulating DNA e conservato a 2–8°C per diversi momenti del test. La resa del ccfDNA è stata quantificata utilizzando un test PCR in tempo reale interno per la sequenza codificante l'RNA 18S. I risultati sono stati calcolati come copie target per ml di plasma immesso.



**Figura 8. Stabilità di ccfDNA in eluati conservati a temperatura compresa tra –15 e –30°C, inclusi 3 cicli di congelamento-scongelo.** Il ccfDNA è stato estratto da plasma trattato con EDTA utilizzando il kit QIASymphony DSP Circulating DNA e conservato a temperatura compresa tra –15 e –30°C in provette Eppendorf LoBind da 1,5 ml. La resa del ccfDNA è stata determinata in 3 momenti del test utilizzando lo stesso eluato in 3 cicli di congelamento-scongelo. La resa del ccfDNA è stata quantificata

---

utilizzando un test PCR in tempo reale interno per la sequenza codificante l'RNA 18S. I risultati sono stati calcolati come copie target per ml di plasma immesso.

Per informazioni aggiornate sulla licenza e per i disclaimer specifici dei prodotti consultare il manuale del kit o il manuale utente QIAGEN. I manuali dei kit e i manuali utente QIAGEN sono disponibili nel sito **[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)** oppure possono essere richiesti al servizio di QIAGEN Technical Services o al proprio distributore locale.

Marchi commerciali: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (Gruppo QIAGEN); Eppendorf® (Eppendorf AG).  
I marchi, i nomi registrati ecc. utilizzati nel presente documento, anche se non contrassegnati specificamente come tali, vanno considerati protetti dalla legge.

02/2017 HB-2309-D01-001  
© 2017 QIAGEN, tutti i diritti riservati



---

Ordini [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Assistenza tecnica [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Sito web [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)

---